

오레가노 추출물이 식중독세균에 대한 항균효과

최무영*, 임태진¹

상지대학교 식품영양학과*, ¹생명공학과

Antimicrobial Effect of Oregano (*Origanum majorana* L.) Extract on Food-borne Pathogens

Moo-Young Choi* and Tae-Jin Rhim¹

Dept. of Food Science and Nutrition, ¹Dept. of Biotechnology Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract - This study was performed to investigate the antimicrobial effects of *Origanum majorana* L. ethanol extract against food-borne pathogens. The antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extract was determined using a paper disc method. The extract exhibited growth inhibiting activities in a concentration dependent manner on 10 species microorganisms. The extract of *Origanum majorana* L. showed the highest antimicrobial activity against *Salmonella enteritidis*. The growth inhibitory effects of *Origanum majorana* L. extract on food poisoning microorganisms were determined against *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*, gram negative and positive bacteria, respectively. The extract of *Origanum majorana* L. had strong antimicrobial activity against *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* at the concentration of 700 mg·L⁻¹. At this concentration, the extract of *Origanum majorana* L. inhibited the growth of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* up to 60 and 36 hours, respectively. The results in the present study demonstrate antimicrobial effects of *Origanum majorana* L. ethanol extract against food-borne pathogens, suggesting that *Origanum majorana* L. could be an effective natural antibacterial agent in food.

Key words - *Origanum majorana* L., antimicrobial activity, natural antibacterial agent

서 언

최근 음식문화의 발달에 따른 식습관의 변화에 의하여 자주 발생하는 식중독균들이 식품 전반에 걸쳐 광범위하게 분포되어 있다. 식품의 부패와 변질은 주로 미생물 작용에 의해 일어나는데 이를 방지하기 위해 가열처리, 냉장, 보존제 첨가, 방사선조사 등 다양한 방법들을 사용하여 저장기간의 연장을 시도하고 있다. 그러나 가열처리나 냉장 및 냉동법은 제품질의 저하, 저장비용의 증가를 가져올 수 있으며 합성보존제의 경우는 그 안정성에 대한 문제 때문에 근래에는 소비자들의 건강 욕구 증대에 따라 점차 사용량을 제한하려는 추세이다(Brane, 1975). 이러한 상황들을 극복하기 위한 방법의 하나로 천연소재로부터 얻은 항균제를 식품에 첨가하여 보존제로 이용함으로써 식품의 신선함과

안전성을 동시에 만족시키려는 노력이 수반되고 있다. 따라서 각종 향신료들로부터 추출한 성분들에 관한 항균력이 보고된 바 있으며 그 밖에 Chitin(Han *et al.*, 1994)과 chitosan(Ahn, 1992) 등의 동물성 항균성 물질이 보고된 바도 있다. 최근에는 한약재와 같은 천연식물 중에서도 상당한 항균성 물질이 존재한다고 알려져 이들 성분의 약리 작용 및 항균성 효과에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(Kweon *et al.*, 1998; Park, 2000; Bae *et al.*, 2005). 따라서 본 연구에서는 유럽 각국의 요리에 널리 사용되는 향신료로서 핏자와 햄버거를 비롯하여 각종 육류와 야채 요리에 널리 이용되고 있는 오레가노를 사용하였다(Farrell, 1985). 오레가노는 꿀풀과에 속하는 허브식물로 독특한 향을 내는 약초이며 줄기는 사각형이고 잎은 대부분 홀잎으로 관목 또는 초본으로 아름다운 꽃과 향을 지니고 있어 관상용으로 재배되고 또한 향신료의 원료로 많이 사용되고 있다(Zgorka and Glowniak, 2001). 페놀 화합물, 특히

*교신저자(E-mail) : mychoi@sangji.ac.kr

rosmarinic acid를 많이 함유하고 있으며, antiinflammatory, antioxidant, antibacterial, antifungal 및 antiviral 특성을 지니고 있다고 보고되고 있다(Deans and Svoboda, 1990; Alma *et al.*, 2003).

오레가노로부터 추출한 oil은 항산화 및 항종양 활성을 나타내었고, 해독효소인 glutathione S-transferase의 활성을 증가시켰다(Dorman and Deans, 2000; Elgayyar *et al.*, 2001). 오레가노의 수용성 추출물은 hydroxyl radical-매개 peroxidation을 효과적으로 억제하였으며, 오레가노에서 순수분리한 추출물인 T3b는 superoxide anion에 대한 소거활성과 TPA(12-O-tetradecanolyphorbol-13-acetate)로 유도된 superoxide 생성을 억제하였다(Sivropoulou *et al.*, 1996). 또한 PC12 세포를 이용한 연구에서 oregano로부터 추출한 ursolic acid 첨가는 reactive oxygen species로부터의 산화 손상을 억제하였으며, 또한 amyloid β 단백질로 유도된 독성도 감소시켰다고 보고하였다(Huang *et al.*, 2002). 또 Conner와 Beuchat(1984)는 마늘, 양파, 오레가노와 thyme의 정유성분이 식품 부패 효모의 증식을 억제 한다고 보고하였고, 박(1997)은 향신료가 식중독세균의 증식을 억제하는 것으로 보고하였다.

이와 같이 오레가노 추출물 또는 oil의 항산화 및 항종양 활성에 관한 연구는 활발히 진행되어 왔으나, 향미생물(식중독균)에 관한 연구결과는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 향신료로 주로 이용되고 있는 오레가노 추출물이 식중독 유발 세균에 대한 항균활성을 검증해 보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 오레가노(*Origanum majorana* L.)는 한국산으로 경기도 양주의 오레가노 재배농가에서 건조된 것을 구입하여 미세하게 마쇄한 후 추출용 시료로 사용하였다. 사용한 시료의 양은 500 g이었다.

사용균주 및 배지

오레가노 추출물의 항균실험에 사용한 균주는 그람양성 세균 2종과 그람음성세균 8종으로 총 10종을 사용하였다(Table 1). 균의 생육배지로는 모든 균주에 대하여 Tryptic soy broth(Difco, TSB)를 사용하여 30°C, incubator에서 18~24시간 배양하였다. 항균성 실험에 사용한 고체배지는 Tryptic soy agar(Difco, TSA)였다.

Table 1. List of microorganisms used for antimicrobial activity test

Strains	
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19117
	<i>Escherichia coli</i> KCTC 2441
	<i>Escherichia coli</i> 0157: H7 ATCC 43890
Gram negative bacteria	<i>Salmonella paratyphi</i> ,
	<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 23715
	<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 2491
	<i>Salmonella typhi</i> KCCM 11808,
	<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 2931
<i>Salmonella enteritidis</i>	

항균성물질의 추출

건조된 오레가노 500 g을 마쇄하여 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 round flask에 넣어 에탄올을 첨가하여 혼합한 후 heating mantal(Ms. E105, Tops)로 4시간 가하여 추출하였다. 이 과정을 3회 반복하여 얻은 추출액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과하여 불순물을 제거하였다. 여과된 용액은 감압농축기(Eyela N-1 NW, Tokyo Rikakikal Co.)를 사용하여 60°C에서 감압, 농축하였다. 이 농축물을 동결건조 시킨 후 적당한 농도로 희석하여 사용하였다. 이 때 조 추출물의 회수량은 14.15 g이었다.

오레가노 추출물의 항균활성 측정

항균효과 실험을 하기 위하여 paper disc method를 사용하였다. 각 시험 균주는 사면배지에서 배양된 것을 1 백 금이를 취하여 10 mL의 TSB배지에 접종한 후 30°C shaking incubator에서 24시간 배양하였다. 배양한 각 균주 100 μ L를 petri dish 넣고 여기에 멸균된 TSA배지 10 mL를 분주하여 고루 섞은 후에 완전히 굳힌 다음 멸균된 paper disc를 배지 표면에 얹고 밀착시킨 후 오레가노 추출물(0, 5, 10, 20 mg)을 흡수시켜 건조시킨 다음 30°C incubator에서 24시간 배양하여 paper disc 주위의 clear zone(mm)의 크기를 측정하여 항균력을 비교하였다. Control은 DMSO를 동일한 방법으로 점적하였다.

미생물의 생육곡선 측정

오레가노 추출물을 membrane filter(0.2 μ m, pore size, Toyoroshi Kaisha, Ltd, Japan)로 제균시키고, 각 추출물을 TSB배지에 300, 500, 700 mg·L⁻¹ 농도별로 첨가하

였다. 여기에 미리 배양한 배양액을 각 100 μL 씩 접종하고 (10^6 cells $\cdot\text{mL}^{-1}$) 30°C 에서 72시간 배양하면서 6시간마다 spectrophotometer 660 nm로 흡광도를 측정하였다.

통계 처리

본 실험의 통계분석은 SPSS package를 이용하여 ANOVA 검정을 행하였으며, 유의성이 발견된 경우 유의성 비교는 Duncan의 다중비교검정($p < 0.05$)을 실시하였다.

결과 및 고찰

오레가노 에탄올 추출물의 항균성 검색

Paper disc 방법으로 오레가노의 에탄올 추출물을 식중 독균에 적응시켜 항균활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 각 균주에 대한 항균활성은 disc에 점적한 오레가노 추출물의 농도가 증가함에 따라 유의적으로 높은 항균활성을 나타내었다($p < 0.05$). 즉 농도가 증가할수록 항균활성을 나타내는 생육저해환의 크기가 증가하여 그람 양성인 *Staphylococcus aureus*와 *Salmonella enteritidis* 대해 20 mg에서 각각 31.8 mm와 32.0 mm의 clear zone을 나타내었고, 그람 음성균에 대해서도 폭넓은 항균력을 지니고 있음을 알 수 있었다. Jeong 등(2005)은 무화과 추출물이 *Salmonella enteritidis*의 생육을 억제하는 것을 밝혔고, Lee 등(2003)은 *Salmonella enteritidis*를 접종한 배지에 3~4%의 매

실 착즙액 첨가에 의해 각각 24시간과 6시간에 성장이 완전히 억제된다고 하였다. Fig. 1에서 보는바와 같이 오레가노 추출물이 그람 음성균인 *Salmonella typhimurium*과 그람 양성균인 *Listeria monocytogenes*에 대해 추출물의 양이 증가할수록 선명하고 큰 clear zone이 형성하였다. 그러나 Han 등(1994)은 매실의 에탄올 추출물을 *Listeria monocytogenes*에 대해 증식저해 정도를 disc method로 검색하였을 때 증식을 억제하지 못하였다는 보고와는 차이를 나타내었다.

오레가노의 에탄올 추출물이 그람 음성 및 그람 양성균에 미치는 영향

오레가노의 추출물이 미생물의 생육저해에 미치는 영향을 알아보기 위하여 항균실험에서 효과를 보인 그람 음성균인 *Salmonella typhimurium*와 그람 양성균인 *Listeria monocytogenes*를 이용하여 세균 수를 나타내는 O.D_{660} 값을 통해 성장곡선으로 나타내 보았다. *Salmonella typhimurium*에서는 오레가노 추출물이 포함되어 있지 않는 대조군에서는 배양 후 12시간에 O.D_{660} 값이 0.52이고 60시간 후에 최고의 증식을 보인 반면, $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 의 농도에서 점차적으로 그 값이 떨어지기 시작하여 $700 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 의 농도에서는 배양 후 60시간에 O.D_{660} 값이 0.06이었으나 전반적으로 0.01~0.06정도로 균의 증식이 현저히 억제되었다(Fig. 2). 또 *Listeria monocytogenes*에서는 6시간 후 대조군의

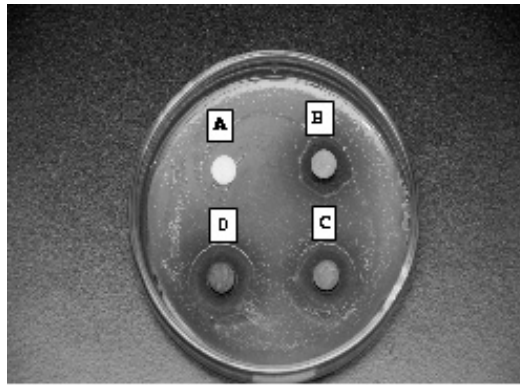
Table 2. Effect of *Origanum majorana* L. ethanol extract on growth inhibiting activities against microorganisms¹⁾

strains	Clear zone diameter(mm) ²⁾			
	0 mg	5 mg	10 mg	20 mg
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928	0±0 ^a	12.3±0.26 ^b	21.4±0.40 ^c	31.8±0.29 ^d
<i>Salmonella enteritidis</i>	0±0 ^a	13.2±0.29 ^b	22.3±0.26 ^c	32.0±0.50 ^d
<i>Salmonella cholerasuis</i> ATCC 2931	0±0 ^a	11.3±0.25 ^b	23.2±0.20 ^c	30.1±0.36 ^d
<i>Salmonella paratyphi</i> ,	0±0 ^a	10.6±0.71 ^b	21.3±0.26 ^c	31.8±0.25 ^d
<i>Escherichia coli</i> KCTC 2441	0±0 ^a	10.5±0.35 ^b	20.7±0.25 ^c	29.5±0.35 ^d
<i>Escherichia coli</i> 0157: H7 ATCC 43890	0±0 ^a	12.0±0.15 ^b	22.3±0.20 ^c	31.1±0.32 ^d
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19117	0±0 ^a	10.6±0.26 ^b	20.2±0.47 ^c	30.5±0.45 ^d
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 23715	0±0 ^a	10.4±0.36 ^b	20.8±0.29 ^c	30.6±0.32 ^d
<i>Salmonella typhi</i> KCCM 11808,	0±0 ^a	11.9±0.10 ^b	21.0±0.45 ^c	31.4±0.53 ^d
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 2491	0±0 ^a	11.7±0.38 ^b	23.0±0.55 ^c	31.8±0.72 ^d

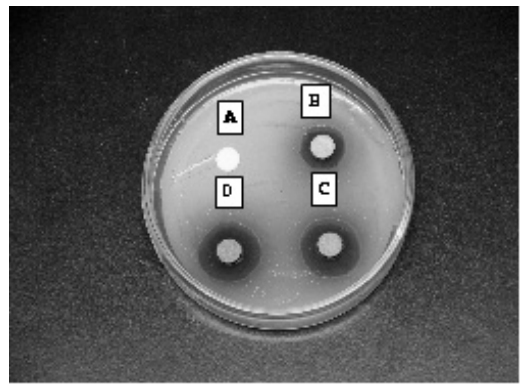
¹⁾ Antimicrobial activity was indicated as diameter of clear zone surrounding paper disc absorbing 5, 10, 20 mg of soluble solid of *Origanum majorana* L. ethanol extract on TSA plate inoculated with test microorganisms.

²⁾ The data are expressed as means ± SD of triplicate determinations.

^{abcd} Values with different superscripts within the same row are significantly different at $P < 0.05$.



Salmonella typhimurium



Listeria monocytogenes

Fig. 1. Antimicrobial activities of *Origanum majorana* L. ethanol extract against *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. A: Control(DMSO) B: 5mg C: 10mg D: 20mg of *Origanum majorana* L. ethanol extract per disc.

O.D₆₆₀ 값이 급격히 증가하여 0.62이었으며, 24시간 이후 부터는 서서히 증가하여 배양 72시간에서는 1.18로 가장 높은 수치를 보였다. 또 오레가노 추출물의 농도가 300 mg·L⁻¹에서는 12시간까지는 감소를 보이다가 24시간부터 는 증가하기 시작하였다. 그러나 오레가노 추출물의 농도가 높아질수록 O.D₆₆₀ 값이 감소하였으며 500, 700 mg·L⁻¹농 도에서는 36시간 및 48시간까지 성장이 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 두 균주 모두 오레가노 추출물을 통한 성장억제 효과는 72시간 동안 지연됨을 알 수 있었고, O.D₆₆₀ 값의 변화로 볼 때 *Salmonella typhimurium* 균이 *Listeria monocytogenes*균 보다 성장이 좀 더 많이 억제 됨을 알 수 있었다. Kong 등(2001)은 신갈나무 잎의 물 추 출물이 *Salmonella typhimurium*에 대하여 250 µg·mL⁻¹의 농도에서 증식이 지연되었다고 보고한 바 있으며, Bae(2005) 는 백화사설초의 메탄올 추출물이 *Salmonella typhimurium* 에 대해 1,000 mg·L⁻¹이상 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 증식억제가 관찰되었다는 보고와 비교해 볼 때 *Salmonella typhimurium*에 대한 오레가노의 에탄올 추 출물의 항균효과가 매우 높음을 알 수 있었다.

적 요

본 연구는 천연 식품보존료 개발의 일환으로 식품에 널 리 이용되고 있는 오레가노를 에탄올로 추출하여 식중독에 관련이 있는 세균에 대한 항균활성을 조사하였다. 오레가 노 추출물은 식중독 세균에 대해 농도 의존적으로 항균효 과를 보였으며, 그 중에서 *Salmonella enteritidis* 균에 대해 가장 높은 항균효과를 보였다. 또 오레가노 에탄올 추

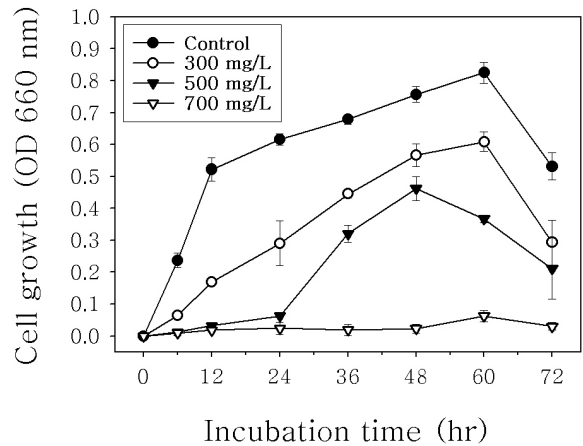


Fig. 2. Effects of ethanol extracts of *Origanum majorana* L. on the growth of *Salmonella* Typhimurium. The values are means ± SD of triplicate determinations.

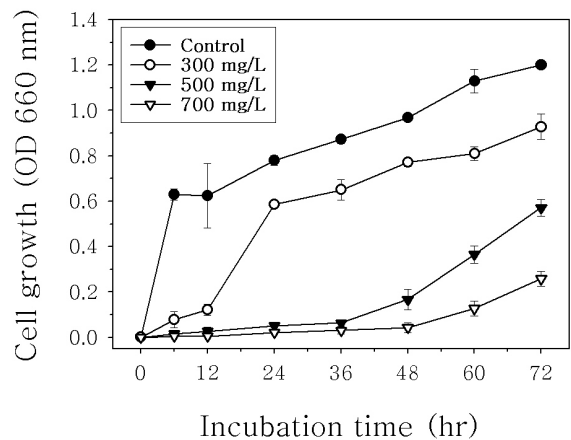


Fig. 3. Effects of ethanol extracts of *Origanum majorana* L. on the growth of *Listeria monocytogenes*. The values are means ± SD of triplicate determinations.

출물이 식중독 유발세균의 성장에 미치는 효과를 검정하기 위해 *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*의 배양액에 오레가노 에탄올 추출물을 각 농도별로 첨가하여 생육을 조사한 결과, *Salmonella typhimurium*와 *Listeria monocytogenes* 생육은 오레가노 에탄올 추출물 700 mg·L⁻¹ 농도에서 각각 60시간 및 36시간까지 억제됨을 관찰할 수 있었다. 본 연구결과는 오레가노 에탄올 추출물이 식중독을 유발시키는 세균에 대하여 우수한 항균작용을 나타내고 있으며, 따라서 오레가노가 효과적인 천연보존료로서 이용될 수 있음을 시사하고 있다.

사 사

이 논문은 2008년도 상지대학교 교내연구비 지원을 받아 수행된 연구입니다.

인용문헌

- Ahn, B.Y. 1992. Antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. Kor J Food Hygiene. 7: 157-160.(in Korean)
- Alma, M.H., A. Mavi, A. Yildirim, M. Digrak and T. Hirata. 2003. Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in turkey. Biol. Pharm. Bull. 26: 1725-1729.
- Bae, J.H. 2005. Antimicrobial effect of *Hedyotis diffusa* extracts on food-borne pathogens. J. Korean Soc Food Sci Nutr. 34: 107-112.(in Korean)
- Bae, J.H., H. J. Jang and J. I. Jung. 2005. Antimicrobial effect of *Rubia okane* Nakai extract on food-borne pathogens. J. Korean Soc Food. Sci Nutr. 34: 389-394.(in Korean)
- Brane, A.L. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. oil Chem. Sci. 52: 59-63.
- Conner, D.E. and L.R. Beuchat. 1984. Effect of essential oils from plants on food spoilage yeasts. J. Food Sci. 49: 429-434.
- Deans, S.G and K. P. Svoboda. 1990. The antimicrobial properties of Majoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. Flavour Fragrance J. 5: 187-190.
- Dorman, H.J.D and S. G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88: 308-316.
- Elgayyar, M., F.A. Draughon, D. A. Golden and J.R. Mount. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. J. Food Prot. 7: 1019-1024.
- Farrell, K.T. 1985. Spices, condiments and seasonings: Van Nostrand Reinhold Co. New York, p.165-168
- Han, B.J., S. W. Lee and H. K. Shin. 1994. Effects of edible herbs on the growth of *in vitro* intestinal microorganism. Korean J Nutr. 27: 819-823.(in Korean)
- Han, J.S., D. H. Shin, S. E. Yun and M. S. Kim. 1994. Antimicrobial effects on *Listeria monocytogenes* by some edible plant extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 545-551.(in Korean)
- Huang, D., B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J. A. Flanagan and R. L. Prior. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. J. Agric. Food Chem. 50: 4437-4444.
- Jeong, M.R., J. D. Cha and Y. E. Lee. 2005. Antibacterial activity of Korean fig (*Ficus carica* L.) against food poisoning bacteria. Korean J. Food Cookery Sci. 2: 84-93.(in Korean)
- Kong, Y.J., B.K. Park and D.H. Oh. 2001. Antimicrobial activity of *Quercus mongolica* leaf ethanol extract and organic acids against food-borne microorganism. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 180-184.(in Korean)
- Kweon, O.G., J.C. Son, S. C. Kim, S. K. Chung and S. W. Park. 1998. Antimicrobial and antioxidative activities from *moutan cortex* extract. Korean J. Postharvest Sci. Technol. 5: 281-285.(in Korean)
- Lee, H.A., E.S. Nam and S.I. Park. 2003. Antimicrobial activity of Maesil (*Prunus mume*) juice against selected pathogenic microorganism. Korean J. Food and Nutr. 16: 29-34.(in Korean)
- Park, C.S. 1997. Effect of spices on the growth of pathogenic bacteria. Korean J. Soc. Food Sci. 13: 330-337.(in Korean)
- Park, C.S. 2000. Effect of pine needle and green tea extracts on the survival of pathogenic bacteria. Korean J. Soc. Food Sci. 16: 40-46.(in Korean)
- Sivropoulou, A., E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. J. Agric. Food Chem. 44: 1202-1205.
- Zgorka, G and K. Glowniak. 2001. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. J. Pharm. biomed. Anal. 26: 79-87.

(접수일 2008.5.28; 수락일 2008.8.14)